

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 102 32 621.5

**Anmeldetag:** 14. Juli 2002

**Anmelder/Inhaber:** Stiftung Alfred-Wegener-Institut für Polar- und  
Meeresforschung, Bremerhaven/DE

**Bezeichnung:** Für ein Enzym Delta-12-Desaturase kodierende  
Nukleinsäuresequenz, zugehöriges Polypeptid  
und Verwendungen von beiden

**IPC:** C 12 N, C 07 H

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-  
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 29. Juli 2003  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Der Präsident  
Im Auftrag

**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED BY

**Für ein Enzym Delta-12-Desaturase kodierende Nukleinsäuresequenz, zugehöriges Polypeptid und Verwendungen von beiden.**

## 5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine für das Enzym Delta-12-Desaturase ( $\Delta 12$ -Desaturase) kodierende Nukleinsäuresequenz, auf das zugehörige Polypeptid und auf Verwendungen sowohl der Nukleinsäuresequenz selbst als auch des zugehörigen Polypeptids.

Enzyme aus der Gruppe der  $\Delta 12$ -Desaturasen katalysieren einen wichtigen Schritt zur Synthese der für Menschen essentiellen Linolsäure, die allen Eukaryoten als wichtiges Strukturelement der Zellmembran dient und mit den aus ihr entstehenden Eicosanoiden viele lebenswichtige Prozesse im Organismus steuert. Ferner ist Linolsäure, die der Mensch aufgrund des Fehlens des Enzyms  $\Delta 12$ -Desaturase nicht selbst herstellen kann, der Ausgangspunkt für die Synthese weiterer essentieller Fettsäuren, z.B. Arachidonsäure (AA, Eicosatetraensäure ETA), Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA).

In **Figur 1** ist ein allgemeines Schema der Biosynthese von mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Poly Unsaturated Fatty Acids, PUFAs) und den beteiligten Enzymen in Eukaryoten dargestellt. Die Umwandlung von Stearinsäure (18 Kohlenstoffe: 0 Doppelbindungen) zu Ölsäure (18:1,  $\Delta 9$ ) wird durch eine  $\Delta 9$ -Desaturase katalysiert. Ölsäure wird durch eine  $\Delta 12$ -Desaturase in Linolsäure (18:2,  $\Delta 9,12$ ; kurz LA) umgewandelt, die wiederum durch eine  $\Delta 6$ -Desaturase in  $\gamma$ -Linolensäure (18:3,  $\Delta 6,9,12$ ; kurz GLA), bzw. durch eine  $\Delta 15$ -Desaturase in  $\alpha$ -Linolensäure (18:3,  $\Delta 9,12,15$ ; kurz ALA) umgewandelt wird. Die Verlängerung der Fettsäuren wird durch Elongasen katalysiert, wodurch z. B. aus  $\gamma$ -Linolensäure Dihomo- $\gamma$ -Linolensäure (20:3,  $\Delta 8,11,15$ ; kurz DGLA)

gebildet wird, die wiederum durch eine  $\Delta 5$ -Desaturase zu Arachidonsäure (20:4  $\Delta 5,8,11,15$ ; kurz ARA) umgewandelt wird, einem direkten Vorläufer der physiologisch wirksamen Eicosanoide, wie z. B. Prostaglandine, Thromboxane, Leukotriene.

5

Die Familie der PUFAs oder Omega-Fettsäuren ( $\omega$ -Fettsäuren, bei  $\omega$  - Zählweise vom Methyl-Ende her), zu denen die aufgeführten Fettsäuren zählen, beeinflussen generell die Innenflächen der Blut- und Lymphgefäße, die Funktion der weißen Blutkörperchen, die Blutgerinnung und Entzündungs- und Immunreaktionen. Bei einer Mangelerkrankung mit diesen essentiellen Fettsäuren kann es zu Störungen der entsprechenden physiologischen Prozesse kommen. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt eine tägliche Zufuhr von mindestens 12,5 g Linolsäure, die nur bei sehr ausgewogener Ernährung aufgenommen werden. Daher werden Nahrungs-

10  
15  
zusatz-Präparate angeboten und Grundnahrungsmittel, z.B. Brot, mit essentiellen Fettsäuren angereichert. Durch diese Maßnahmen soll eine Hilfestellung zur besseren Beherrschung des Risikofaktors Herz-Kreislauf-Erkrankungen geleistet werden.

20

Da Vertebraten keine Doppelbindungen hinter Position 9, bei  $\Delta$ -Zählweise vom Carboxy-Ende her, in Fettsäuren einfügen können, sind ungesättigte Fettsäuren wie LA und ALA oder die sie katalysierenden Enzyme  $\Delta 12$ - und  $\Delta 15$ -Desaturasen essentielle Nährstoffe, deren Bedarf hauptsächlich aus pflanzlichen und tierischen Quellen gedeckt werden müssen. Die meisten

25  
30  
PUFAs in Menschen und Tieren stammen entweder direkt aus der Ernährung wie Fischen und bestimmten Pflanzen (Olive, Nachtkerze, Borretsch) oder entstehen durch die Umsetzung der durch die Ernährung zugeführten essentiellen Fettsäuren durch Desaturasen und Elongasen. Deshalb sind die Organismen, in denen diese natürlicherweise vorkommen, von großem kommerziellen Interesse. Zum Forschungsprogramm der Pharma- und Nahrungsmittelindustrie gehört daher die ständige Suche nach neuen Quellen,

insbesondere nach entsprechenden Mikroorganismen. Über die direkte Gewinnung von PUFAs aus solchen Organismen hinaus ist durch die heutigen Möglichkeiten der Gentechnologie aber die Kenntnis der in ihnen wirksamen Gene der PUFA-Biosynthese von besonderem Interesse. Durch die gezielte, funktionelle Expression der Gene in Wirtspflanzen wie Sojabohne oder Mais kann eine kommerzielle Produktion von PUFAs in solchen besser zugänglichen Systemen erreicht werden. Aus diesem Grund besteht ein Bedarf an Genen für Desaturasen und Elongasen der PUFA-Biosynthese, sowie für die Gewinnung von PUFAs durch ökonomische Methoden mit Hilfe dieser Gene.

Die Wirkungsweise von Desaturasen im Fettstoffwechsel ist ausreichend bekannt. Es liegt daher eine ganze Reihe von Veröffentlichungen über die Bereitstellung solcher Enzyme, ihrer Aminosäuresequenzen und der für sie kodierenden Gene vor. Beispielsweise ist aus der **WO9411516** „Genes for microsomal delta-12 fatty acid desaturases and related enzymes from plants“ (1994) eine sehr umfangreiche Darlegung der Erkenntnisse zum Fettstoffwechsel bekannt. Hier werden  $\Delta$ -12-Desaturasen aus Pflanzen, z.B. Sojabohne, Ölsaat Brassica spezie, Arabidopsis thaliana und Mais, beschrieben. In einem Expressionsverfahren wird der Einsatz von „Gen-Chimären“ zur Transformation von Pflanzen, d.h. die Manipulation des Wirtsgenoms durch Einbau fremder Gene mittels Vektoren, zur vermehrten Produktion essentieller Fettsäuren offenbart. Eine Delta-12-Desaturase, für die eine Nukleinsäuresequenz aus der gemeinen Haselnuss kodiert, ist aus der **EP 0794250** bekannt. Die **WO0020602** „Delta 6 and delta 12 desaturases and modified fatty acid biosynthesis and products produced therefrom“ (2000) beansprucht  $\Delta$ -6- und  $\Delta$ -12-Desaturasen, Nukleinsäuresequenzen, die für solche Proteine kodieren, DNA-Strukturen, die solche Gene enthalten und Mikroorganismen, die erhöhte Mengen solcher Desaturasen exprimieren. Es handelt sich bei den Desaturasen bevorzugt um Isolationen aus dem ölhaltigen Pilz Mortierella alpina. In der **DE10044468** „New nucleic acid encoding delta-6-

desaturase, useful for producing ciliates and plants that overproduce unsaturated fatty acids, derived from Tetrahymena" (2001) wird eine  $\gamma$ -Linolensäure aus Linolsäure katalysierende  $\Delta$ -6-Desaturase, gewonnen aus dem Ciliaten *Tetrahymena thermophila*, beschrieben. Hierbei handelt es sich  
5 um ein wärmeliebendes Wimperntierchen, das sein Aktivitätsmaximum bei höheren Temperaturen hat.

Die kommerzielle Herstellung von essentiellen Fettsäuren aus natürlichen Quellen ist jedoch mit einigen Nachteilen verbunden. Sowohl deren Qualität als  
10 auch die Quantität schwanken und sie weisen teilweise eine heterogene Zusammensetzung auf, wodurch Reinigungsschritte notwendig werden. Dagegen hat sich gezeigt, dass die Ausbeute bei einigen Mikroorganismen im Vergleich zu höheren Pflanzen deutlich besser ist. Aus diesem Grunde bietet die Herstellung von essentiellen Fettsäuren durch Mikroorganismen eine  
15 vielversprechende Alternative zu anderen PUFA-Quellen. Das Fettsäurespektrum vieler Mikroorganismen ist oft recht einfach im Vergleich zu höheren Organismen, was große Vorteile bei der Reinigung bietet. Darüber hinaus ist die fermentative Herstellung nicht von externen Faktoren wie Wetter, Nahrungsangebot etc. abhängig. Außerdem sind auf diese Weise hergestellte  
20 PUFAs weitgehend frei von Kontaminationen die z. B. auf Umweltverschmutzung zurückzuführen sind. Ein weiterer Vorteil ist, dass durch fermentative Prozesse gewonnene PUFAs im Gegensatz zu solchen aus natürlichen Quellen keinen Schwankungen in der Verfügbarkeit unterliegen.

25 Desweiteren entstammen alle in den oben zitierten Druckschriften genannten und auch alle weiteren, derzeit bekannten Organismen zur Fettsäureproduktion aus gemäßigten Klimazonen. Somit benötigen alle geeigneten Organismen zur Produktion essentieller Fettsäuren ihren natürlichen klimatischen Umgebungsbedingungen entsprechende Prozessbedingungen, insbesondere deutlich  
30 erhöhte Prozesstemperaturen. Folglich sind stets Einrichtungen zur Temperaturbeaufschlagung, insbesondere aufwändige Zuchtreaktoren zur Produktion erforderlich.

Aus der **Veröffentlichung I** „Zahllose Geheimnisse der Natur“ von K. Eske (vgl. BioLOG, 3.Ausgabe, Februar 2000, Seiten 2/3, abrufbar unter <http://www.Bioregio.org/biolog-3.pdf>, Stand 04.06.2002) ist es bekannt, 5 kälteangepasste Enzyme aus Bakterien, die in Tiefseeregionen vorkommen, zu isolieren. Neben dem Vorteil, dass kälteangepasste Enzyme zur Expression keine erhöhten Temperaturen benötigen, ergibt sich bei den entsprechenden Organismen aus den Tiefseeregionen ein großes Vorkommenspotential, da 80% des die Erdoberfläche bedeckenden Wassers eine Temperatur unter 5 °C 10 aufweist. Mikroorganismen aus kalten Regionen haben einen besonders hohen Anteil an PUFAs, die ein Erstarren der Zellwände bei niedrigen Temperaturen verhindern. Die Temperatur des Aktivitätsmaximums dieser Organismen und ihrer funktionellen Bestandteile liegt deutlich unter dem anderer Organismen aus temperierten und tropischen Breiten. Durch den 15 Einsatz von kälteangepassten Mikroorganismen, auch in gentechnisch modifizierter Form, ist damit eine Produktion unter niedrigen Temperaturen mit einem gegenüber den herkömmlichen Gewinnungsverfahren mit nicht kälteangepassten Organismen deutlich geringerem Energieeinsatz entscheidend wirtschaftlicher als bei deren sonst üblichen Aktivitätstemperaturen.

20 Vor dem Hintergrund dieser bedeutenden Erkenntnisse ist es daher die **Aufgabe** für die vorliegende Erfindung, zur wirtschaftlichen Produktion essentieller Fettsäuren auf Basis eines Enzyms Delta-12-Desaturase einen kälteangepassten Organismus zu finden, der eine Nukleinsäuresequenz 25 aufweist, die für ein kälteangepasstes Enzym Delta-12-Desaturase bei tiefen Prozesstemperaturen kodiert. Die **Lösung** hierfür ist dem Anspruch 1 zu entnehmen. Vorteilhafte Weiterbildungen und Anwendungen, die sich auch auf das zur beanspruchten Nukleinsäuresequenz zugehörige Polypeptid beziehen, sind den unter- und nebengeordneten Ansprüchen zu entnehmen.

Mit der erfindungsgemäßen Lösung werden die an die Erfindung gestellten Anforderungen optimal erfüllt. Zum einen weist der beanspruchte Nukleinsäuresequenz aufweisende Organismus ein Delta-12-Desaturase-Enzym auf, das zur Katalyse eines wichtigen Schritts zur Produktion von essentiellen Fettsäuren besonders geeignet ist, zum anderen entstammt der Organismus der antarktischen See, sodass dieses Enzym zusätzlich auch noch kälteangepasst ist und zu seiner Aktivität keine Wärmezufuhr benötigt wird. Die Kenntnis eines solchen Gens ist von elementarer Wichtigkeit, da dieses für ein kälteangepasstes  $\Delta 12$ -Desaturase-Enzym kodiert, das besonders für die Pflanzenzucht in gemäßigten und kälteren Breiten interessant ist. Die mikrobielle Fettsäuresynthese erzielt somit mit der schnell wachsenden Kieselalge mit ihrem kälteangepassten Enzym unter niedrigen Temperaturen hohe Erträge.

Durchgeführte Sequenzanalysen bestätigen, dass die erfindungsgemäß beanspruchte Nukleinsäuresequenz für ein  $\Delta 12$ -Desaturase-Enzym kodiert. Durch die heutigen entwickelten Methoden der automatisierten Sequenzierung von Nukleinsäureabschnitten ist es möglich geworden, in überschaubaren Zeiträumen gezielt Gene mit gewünschten Eigenschaften aus aussichtsreichen Organismen zu isolieren. Umfangreiche öffentliche Datenbanken mit bereits bestimmten, bekannten Funktionen zugeordneten Sequenzen dienen der schnelleren Verifizierung der Ergebnisse der mühsamen Suche. Zur Bereitstellung des für die Sequenzierung aufbereiteten Grundmaterials dient eine Reihe von an sich bekannten Arbeitsschritten:

### **1) Isolation und Kultivierung des Organismus *Fragilariopsis cylindrus***

**Isolation** : Während einer Antarktisfahrt mit dem deutschen Forschungseisbrecher „Polarstern“ in die Weddell-See wurde die Kieselalge aus dem Meereis isoliert. Die Artbestimmung erfolgte in einfacher Weise durch die Typisierung

der Struktur der Schale (vergleiche hierzu die **Veröffentlichung II** von Medlin & Priddle : „Polar marine diatoms“, 2<sup>nd</sup> edition, British Antarctic Survey, Cambridge 1990).

- 5 **Kultivierung** : Die Kieselalge wurde bei 0°C in einem nährsalzangereicherten Medium 2 x f/2 bei 10 µmol Photonen m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> mit 24h Licht, gehältert (vergleiche hierzu die **Veröffentlichung III** von Guillard & Ryther : "Studies of marine plancton diatoms, I. *Cyclotella nana* (Husted) and *Detonula confervacea* (Cleve)", 1962, Can.J.Microbiol. 8, 229:239). Für eine gesteigerte Expression
- 10 der für die Kälteanpassung der Art verantwortlichen Gene wurden die Algen in der Mitte der exponentiellen Wachstumsphase auf -2°C abgekühlt. Dies entspricht dem Gefrierpunkt von Meerwasser. Nach 5 Tagen wurden die Boten-RNA (mRNA, messenger RNA) aus den Algen isoliert. Die mRNA repräsentieren alle gerade aktiven Gene, also auch diejenigen, die für die
- 15 Kälteanpassung verantwortlich sind.

## 2) Isolation der mRNA

- Die gesamte RNA wurde mit dem RNAeasy Plant Mini Kit (Firma Qiagen)
- 20 isoliert. Aus ca. 100 µg RNA konnte mit Hilfe des Oligotex mRNA Midi Kit (Firma Qiagen) ca. 800 ng RNA für die cDNA-Synthese isoliert werden.

## 3) Herstellung und Screening einer cDNA-Bank

- 25 Die cDNA-Bank wurde auf der Basis der mRNA mit dem SMART cDNA-Library Construction Kit (Firma Clontech) hergestellt:

A) Von der mRNA wurde dazu mit Hilfe von Oligonukleotiden und CDS III/3' Primern der erste cDNA-Strang synthetisiert.



B) Anschließend wurde die Doppelstrangsynthese mit Hilfe der LD-PCR (long distance polymerase chain reaction) im Eppendorf-Thermocycler unter folgendem Programm realisiert:

C)

- 5 1. 5 min Denaturierung bei 95°C, anschließend 20 Zyklen von 6 min bei 68°C und 2 min bei 95°C.
2. Nach einem Sfil-Verdau (mit Restriktionsenzym aus *Streptomyces fimbriatus*) der cDNA wurde sie in CHROMA Spin-400 Säulen der Größe nach fraktioniert, so dass nur cDNAs der Länge >400bp (Basenpaare)  
10 für die Klonierung zum Einsatz kamen.
3. Diese cDNAs wurden über Nacht bei 16°C in TriplEX2 Vektoren ligiert, die von  $\lambda$ -Phagen aufgenommen werden konnten. Der Titer dieser cDNA-Bank lag bei  $2.7 \times 10^9$  pfu/ml (plaque forming units).
4. Ein Blau-Weiß-Screening mit IPTG (Isopropyl-b-D-Thiogalactosid) und  
15 X-Gal (X-Galactosid) zeigte eine Rekombinationseffizienz von 70%.
5. Diese cDNA-Bank wurde mit Hilfe einer Digoxigenin markierten  $\Delta$ -12-Desaturase aus *Phaeodactylum tricornutum* gescreent.
6. Die Hybridisierung erfolge über Nacht bei 50°C
7. Die Stringenzwäsche wurde in 2 x SSC / 0,5 x SDS durchgeführt.

#### 20 4) Sequenzanalyse

Positive Phagen-Plaques wurden vom 5'-Ende mit  $\lambda$ -Primern vom Qiagen-Sequencing-Service sequenziert. Die Sequenzen wurden in der Genbank bei  
25 NCBI (National Center for Biotechnology Information) mit der BLASTX-Option auf ihre Homologien zu vorhandenen Sequenzen untersucht (25.02.2002). Die Vergleichsergebnisse wiesen Scorewerte zwischen 50 und 80 auf. Eine von 20 positiven Phagen-Plaques konnte zweifelsfrei als  $\Delta$ -12-Desaturase identifiziert werden.

In **Figur 2** ist das Ergebnis einer phylogenetischen Analyse dargestellt. Danach gruppiert die Desaturase aus *Fragilariopsis cylindrus* mit signifikantem bootstrap support (97% bzw. 99%) mit anderen  $\Delta$ -12-Desaturasen. Es handelt sich daher bei dem kälteangepassten Enzym, das von der beanspruchten

5 Nukleinsäuresequenz nach der Erfindung aus der Diatomee *Fragilariopsis cylindrus* kodiert wird, mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ebenfalls um eine  $\Delta$ -12-Desaturase.

## Sequenzprotokoll

<110>Stiftung Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung,  
Bremerhaven

<120> Für eine Delta-12-Desaturase kodierende neue Nukleinsäuresequenz  
aus der kalteangepassten marinen Diatomee *Fragilariopsis cylindrus*

<130>AWI 01-0702 DE

<160>1

<210>1

<211>456

<212>DNA

<213>Fragilariopsis cylindrus

<400>1

20	cc ggg aat tcg gcc att acg gcc ggg gag atc gga tcg act cat gtc	47
	Gly Asn Ser Ala Ile Thr Ala Gly Glu Ile Gly Ser Thr His Val	
	1 5 10 15	
25	gct cat cat ttg ttt cac gag atg cca cat tac aat gca tta gag gca	95
	Ala His His Leu Phe His Glu Met Pro His Tyr Asn Ala Leu Glu Ala	
	20 25 30	
30	acg cat gcc atc aga gca ttt ttg gaa cca aaa gga ttg tac aat tat	143
	Thr His Ala Ile Arg Ala Phe Leu Glu Pro Lys Gly Leu Tyr Asn Tyr	
	35 40 45	
35	gat cct gct cca tgg tac aag gcc atg tgg agg atc gga aaa acg tgc	191
	Asp Pro Ala Pro Trp Tyr Lys Ala Met Trp Arg Ile Gly Lys Thr Cys	
	50 55 60	
40	cat tac gtt gaa gct gaa act ggt att caa tat tac aaa tca atg gag	239
	His Tyr Val Glu Ala Glu Thr Gly Ile Gln Tyr Tyr Lys Ser Met Glu	
	65 70 75	
45	gat gtt cca ctt aca aag gat ctg aaa aag gat taaagtaatt cataattcaa	292
	Asp Val Pro Leu Thr Lys Asp Leu Lys Lys Asp	
	80 85 90	
50	tataccttca attccgctaa atttttcctt gttcaattat atcaactaca cgtacttggt	352
	agatactatt acacagacat gtataaaata gtctatataa catcaacata ataatgaaaa	412
	ttgctattat ttacgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa	456

## Patentansprüche

1. Für ein Enzym Delta-12-Desaturase kodierende Nukleinsäuresequenz,  
5 **dadurch gekennzeichnet, dass**  
diese aus der kälteangepassten marinen Diatomee *Fragilariopsis cylindrus* stammt und gemäß SEQ ID No.1 oder als funktionelle Variante oder als Abschnitt mit mindestens 8 Nukleotiden davon ausgebildet ist.
- 10 2. Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 1,  
**dadurch gekennzeichnet, dass**  
die Nukleinsäuresequenz als DNA oder RNA, vorzugsweise als doppelsträngige DNA ausgebildet ist.
- 15 3. Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 1 oder 2,  
**dadurch gekennzeichnet, dass**  
die Nukleinsäuresequenz in einem Vektor, vorzugsweise in einem Expressionsvektor enthalten ist.
- 20 4. Verwendung der Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 3 zur Expression oder Überexpression des Enzyms Delta-12-Desaturase in Wirtsorganismen.
- 25 5. Zur Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 1 oder 2 zugehöriges Polypeptid, das mit einer Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID No.1 oder als funktionelle Variante oder als Abschnitt mit mindestens 6 Aminosäuren davon ausgebildet ist.
- 30 6. Verwendung des zum Protein gefalteten Polypeptids nach Anspruch 5 zur Anreicherung von vom Enzym Delta-12-Desaturase abhängigen Fettsäuren in Wirtsorganismen.
7. Verwendung des Polypeptids nach Anspruch 6 als Zusatz zu menschlicher Nahrung oder in Medikamenten.

1/2

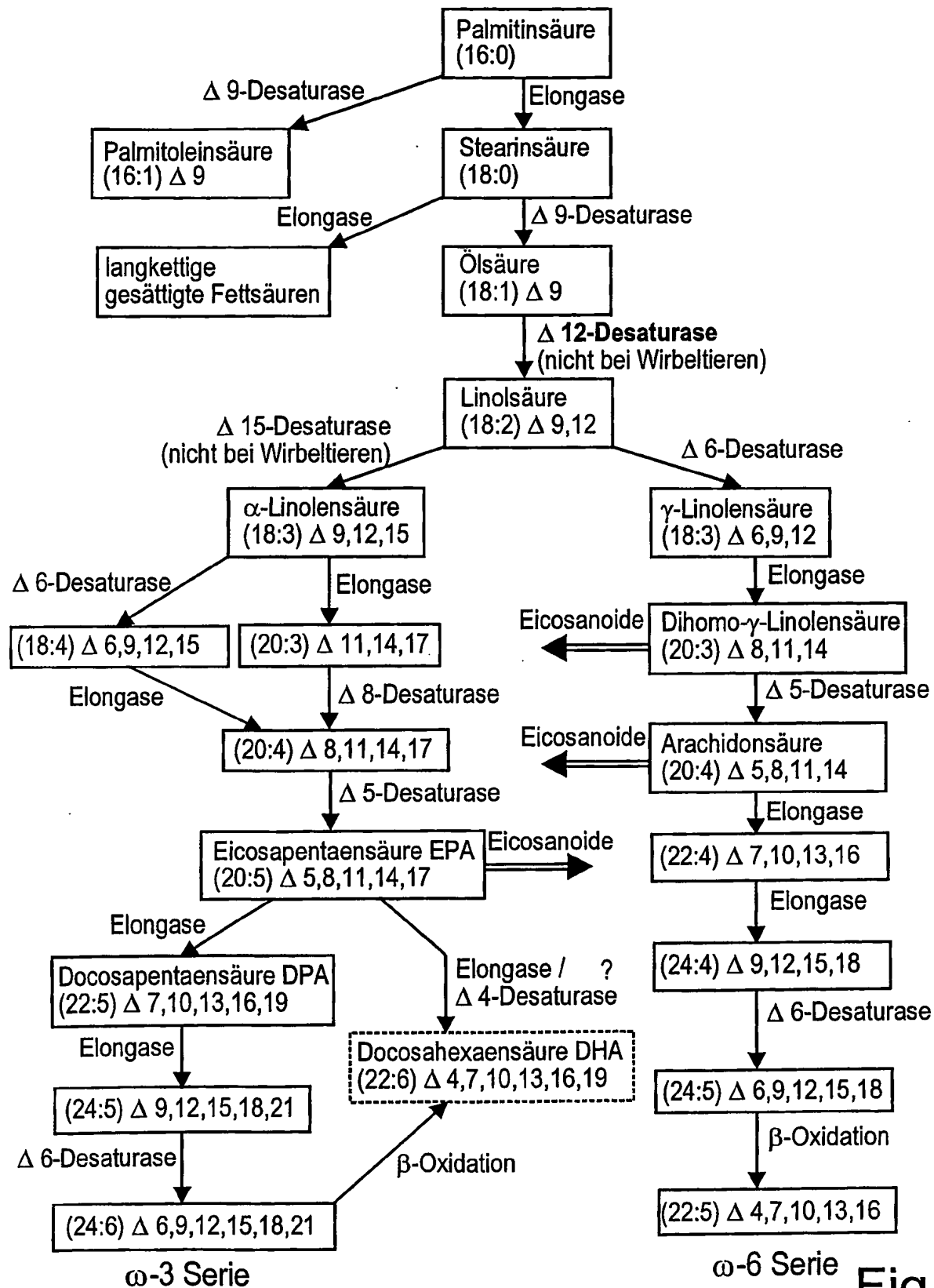


Fig. 1

2/2

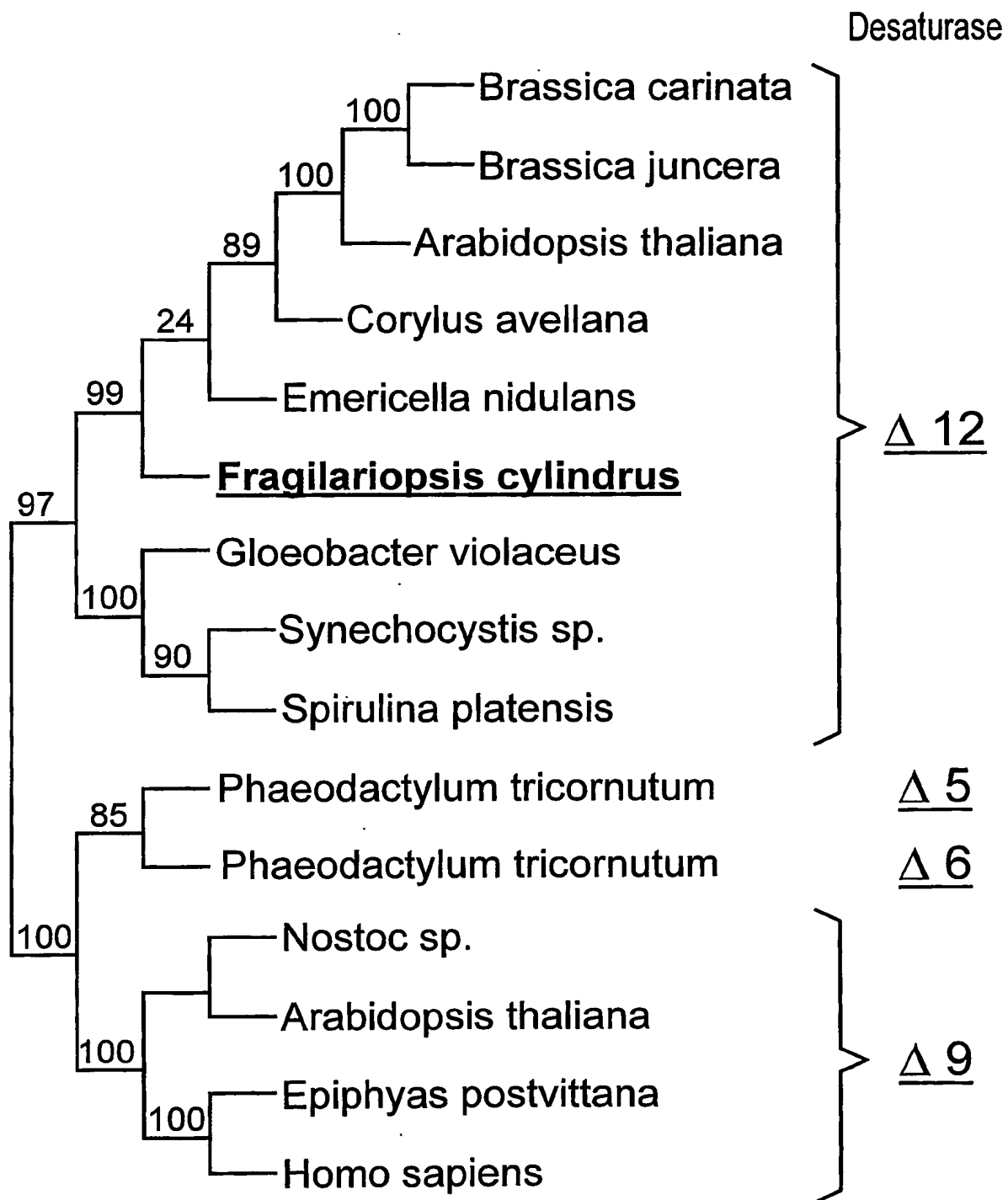


Fig.2

## Zusammenfassung

**Für ein Enzym Delta-12-Desaturase kodierende Nukleinsäuresequenz,  
zugehöriges Polypeptid und Verwendungen von beiden.**

Enzyme aus der Gruppe der Delta-2-Desaturasen katalysieren einen wichtigen Schritt zur Synthese der für Menschen essentiellen mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die allen Eukarioten als wichtige Strukturelemente der Zellmembran dienen und viele lebenswichtige Prozesse im Organismus steuern. Dabei handelt es sich um essentielle Nährstoffe, deren Bedarf hauptsächlich aus pflanzlichen und tierischen Quellen gedeckt werden muss. Bekannte Organismen, in denen ein Delta-12-Desaturase-Enzym natürlicherweise vorkommt, stammen jedoch ausschließlich aus wärmeren Regionen, sodass bei der Fettsäureproduktion eine ökonomisch und apparatetechnisch aufwändige Wärmezufuhr erforderlich ist. Bekannt sind jedoch auch Organismen, die kälteangepasste Enzyme aufweisen. Die Erfindung beansprucht daher für ein Enzym Delta-12-Desaturase eine kodierende Nukleinsäuresequenz, die aus der kälteangepassten marinen Diatomee *Fragilariopsis cylindrus* stammt und gemäß SEQ ID No.1 oder als funktionelle Variante oder als Abschnitt mit mindestens 8 Nukleotiden davon ausgebildet ist. Damit wird ein Gen zur Verfügung gestellt, das ein bei der Fettsäureproduktion wichtiges Enzym mit kälteangepassten Eigenschaften kodiert, sodass eine besonders wirtschaftliche Fettsäureproduktion ermöglicht wird.

**Figur 2**

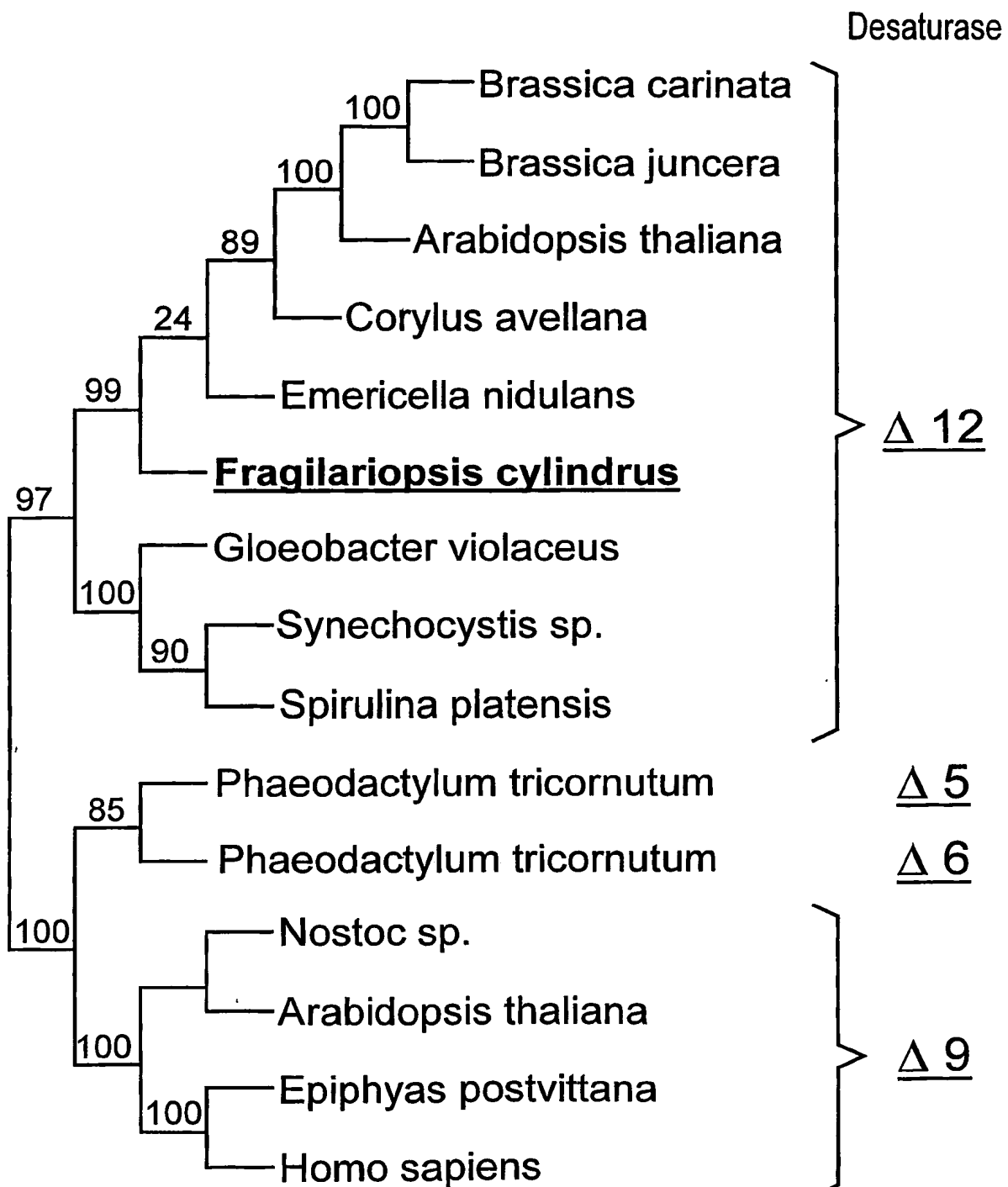


Fig.2